

Universidade de Lisboa

Faculdade de Medicina Dentária



**Estudo *in vitro* da adesão à dentina promovida por um
sistema universal – All-Bond Universal – com e sem pressão
pulpar**

Daniela Margarida Martins Abreu

Dissertação

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

2017

Universidade de Lisboa

Faculdade de Medicina Dentária



**Estudo *in vitro* da adesão à dentina promovida por um
sistema universal – All-Bond Universal – com e sem pressão
pulpar**

Daniela Margarida Martins Abreu

Dissertação orientada

Pela Prof.^a Doutora Sofia Arantes e Oliveira

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

2017

Agradecimentos

Desde os meus três anos de idade que corro atrás do sonho de querer ser Médica Dentista, e eis que a minha determinação me trouxe até aqui...

É com um misto de sentimentos que vejo o culminar destes longos 5 anos, o que por um lado me enche o coração de felicidade, por ter vencido todas as adversidades com sucesso, mas ao mesmo tempo de nostalgia, pois um vazio me invade ao se aproximar o final de um ciclo. Não considero que seja uma porta que se está prestes a fechar mas sim uma força impulsionadora que me leva a querer prosseguir com a minha carreira académica, pois acredito que há sempre lugar para o conhecimento.

Ao longo desta etapa que me enriqueceu a nível pessoal, profissional e que tanto me fez crescer tive o prazer de me cruzar com pessoas que foram fulcrais ao longo do meu mestrado integrado, por isso, e citando as palavras de Antoine de Saint Exupéry: “Aqueles que passam por nós, não vão sós, não nos deixam sós. Deixam um pouco de si, levam um pouco de nós”, quero agradecer:

À minha orientadora, Professora Doutora Sofia Arantes e Oliveira, por ter sido incansável e sempre disponível para esclarecer todas as dúvidas, por me ter transmitido os seus conhecimentos, pelo rigor, pela enorme competência, pelas palavras de incentivo, pela simpatia e por ter me ter contagiado com o seu gosto pela investigação desde que fui sua aluna na unidade curricular de Biomateriais, obrigada do fundo do coração pois a sua orientação foi fundamental para realização desta dissertação.

À Professora Doutora Filipa Chasqueira e à Professora Manuela Lopes, pela simpatia e palavras de incentivo, bem como a disponibilidade para responder às minhas dúvidas relativas ao laboratório.

Ao meu colega Nuno Prudêncio, pelas horas passadas no laboratório, pelo trabalho de equipa e por todo o apoio.

Estudo *in vitro* da adesão à dentina promovida por um sistema universal – *All-Bond*
Universal – com e sem pressão pulpar

À minha dupla Cátia Vieira, pela paciência e por me ter apoiado ao longo desde trajeto.

Às minhas colegas Beatriz Pedro, Ana Margarida Mimoso, Catarina Andrade por todos os momentos e pelo incentivo.

Aos meus amigos Maria Vaz, João Brito, Júnior Guerreiro e André Veiga por nunca terem duvidado das minhas capacidades.

Aos meus pilares, aos meus pais por nunca me terem deixado desistir do meu sonho e por terem feito os possíveis e os impossíveis para me mostrarem sempre qual o melhor caminho, à minha irmã pela nossa cumplicidade e por me ajudar sempre que preciso, aos meus avós pelo carinho e por ultimo e não menos importante ao meu namorado Pedro Roberto pelo amor, por cuidar de mim e por me fazer sempre acreditar que sou capaz.

Um sincero muito obrigada!

Resumo

Objetivo: Avaliar se o modo de aplicação do adesivo All-Bond Universal®, *etch-and-rinse* (ER) ou *self etch* (SE), bem como se a presença de pressão pulpar têm influência na morfologia da interface adesiva e na resistência adesiva à microtração às 24 horas.

Materiais e métodos: 40 molares humanos íntegros foram divididos em 4 grupos: Grupo A – aplicação do adesivo no modo ER, Grupo B – aplicação do adesivo no modo SE, ambos sem a presença de pressão pulpar; Grupo C – aplicação do adesivo no modo ER; Grupo D – aplicação do adesivo no modo SE, ambos submetidos a pressão pulpar.

Após adesão e restauração em resina composta, os espécimes foram armazenados a 37°C durante 24 horas, sendo posteriormente submetidos ao corte para obtenção de palitos para o estudo da resistência adesiva e um espécime para observação em SEM. Os resultados do teste de microtração foram analisados segundo os testes *Shapiro-Wilk* e *Levene*, o que garantiu os pressupostos de normalidade e homogeneidade utilizando-se para as comparações múltiplas o teste ANOVA de duas dimensões.

Resultados: Em microscopia eletrônica de varrimento (SEM) verificou-se que o Grupo A apresentou uma camada híbrida mensurável com prolongamentos de resina abundantes, enquanto que no Grupo C estas características foram consideradas menos pronunciadas. Nos Grupos B e D a camada híbrida não foi observada e nos Grupos C e D a interface adesiva apresentou irregularidades. Na análise de resistência adesiva verificou-se que não ocorreram diferenças quanto ao modo de adesão utilizado ($p > 0,05$) nem quanto à presença de pressão pulpar ($p > 0,05$).

Conclusões: Verificaram-se diferenças na interface adesiva consoante o modo de adesão utilizado e irregularidades aquando da presença de pressão pulpar. Às 24 horas os valores de resistência adesiva foram semelhantes entre todos os grupos experimentais, sendo necessário mais estudos para averiguar a *performance* do sistema adesivo a longo prazo.

Palavras-Chave: Sistema adesivo universal, pressão pulpar, microtração, camada híbrida, microscópio eletrônico de varrimento

Estudo *in vitro* da adesão à dentina promovida por um sistema universal – *All-Bond*
Universal – com e sem pressão pulpar

Abstract

Objectives: The aim of this *in vitro* study was to evaluate the influence of the adhesion mode, etch-and-rinse (ER) or self etch (SE), as well as the influence of pulpal pressure on the morphology of the adhesive interface and on the immediate microtensile bond strengths promoted by All-Bond Universal ®.

Materials and Methods: 40 healthy human molars were distributed into 4 groups: Group A- ER mode; Group B – SE mode, both without pulpal pressure; Group C – ER mode and Group D- SE mode, both with pulpal pressure.

After adhesive procedures and composite restoration, the specimens were stored 24 hours in an incubator, and then they were cut to be submitted to microtensile bond strength testing and scanning electron microscope (SEM) observation.

The microtensile bond strength results were analyzed by Shapiro-Wilk and Levene that guaranteed the normality and homogeneity assumptions to use two-way ANOVA.

Results: In Group A, a measurable hybrid layer and many resin tags were presents, while in the Group C these characteristics were less pronounced. In the Groups B and D an hybrid layer could not be observed and in the groups C and D more defects on interface were detected than in the other groups tested. No microtensile bond strength differences were detected between the experimental groups ($p>0,05$).

Conclusions: There are differences in the interface depending on the adhesion mode and irregularities when pulpal pressure is present. The results of microtensile bond strength were similar for all the experimental groups at 24 hours. Further studies are required to determine the long-term performance of the adhesive.

Keywords: universal adhesive system, pulpal pressure, microtensile bond strength, hybrid layer, scanning electron microscopy

Estudo *in vitro* da adesão à dentina promovida por um sistema universal – *All-Bond*
Universal – com e sem pressão pulpar

Índice

Agradecimentos.....	i
Resumo.....	iii
Abstract.....	v
Lista de figuras.....	ix
Lista de tabelas.....	x
Abreviaturas.....	xi
Símbolos.....	xi
Unidades.....	xi
1. Introdução.....	1
2. Objetivos.....	6
3. Materiais e métodos.....	8
3.1. Desenho experimental.....	8
3.2. Materiais.....	9
3.3. Preparação dos espécimes.....	10
3.4. Caracterização morfológica da interface adesiva com microscopia eletrônica de varrimento (SEM).....	11
3.5. Ensaio de resistência adesiva à microtração.....	12
3.6. Análise estatística.....	13
4. Resultados.....	14
4.1. Caracterização morfológica da interface adesiva em SEM.....	14
4.2. Análise dos valores de microtração.....	18
5. Discussão.....	19
6. Conclusão.....	25
7. Referências bibliográficas.....	26
Anexo A – Tabelas.....	I

Estudo *in vitro* da adesão à dentina promovida por um sistema universal – *All-Bond*
Universal – com e sem pressão pulpar

Lista de figuras

Figura 1 – Esquema do estudo.....	8
Figura 2 - Materiais utilizados	9
Figura 3 - Dispositivo de pressão pulpar	10
Figura 4 - Jig de Geraldeli com espécime.....	13
Figura 5 – Imagens obtidas através de SEM da interface adesiva após aplicação do sistema adesivo no modo <i>etch-and-rinse</i> , não sujeito a pressão pulpar - Grupo A (A). Imagens A1, A2 e A3 - ampliação 2000x. Imagem A4, A5 e A6 – ampliação – 50x. C- Camada de compósito , A - Camada de adesivo, D- Dentina , H- Camada Híbrida, Seta branca- prolongamento de resina, Seta preta - prolongamento acessório.	14
Figura 6 – Imagens obtidas através de SEM da interface adesiva após aplicação do adesivo no modo <i>self-etch</i> , Grupo B (B). Imagens B1, B2, B3, B4, B5 e B6 – ampliação 2000X; Imagens B7, B8 e B9- ampliação 50x. C- Camada de Compósito, A - Camada de Adesivo, D - Dentina, H – Camada Híbrida, Seta Branca - Prolongamento de resina.....	15
Figura 7 – Imagens obtidas através de SEM da interface adesiva após aplicação do adesivo pela <i>etch-and-rinse</i> submetido a pressão pulpar positiva, Grupo C (C). Imagens: C1, C2, C3, C4 e C5 – ampliação 2000x; Imagens C6, C7 e C8 -ampliação 500x; Imagens C9 – ampliação 50x. C- Compósito, A – Adesivo, H- Camada Híbrida P –Porosidade, D – Dentina, Seta a branco – Retenções de resina, * - Falha a cima da camada híbrida, ** - Falha a baixo da camada híbrida. *** - Falha no seio da camada híbrida.....	14
Figura 8 - Imagens obtidas através de SEM da interface adesiva após aplicação do adesivo pela técnica <i>self-etch</i> submetido a pressão pulpar positiva, Grupo D (D). Imagem D1, D2, D3, D4, D5, e D6 – ampliação 2000x; Imagens D7, D8 e D9 - ampliação 50x. C- Compósito, A – Adesivo, H- Camada Híbrida, P- Porosidade, **- Falha a baixo da camada Híbrida.....	19
Figura 9 - Gráfico que representa em % as zonas de falha de cada grupo em estudo. A – Falha Adesiva, CC- Falha Coesiva no Compósito, CD – Falha Coesiva na Dentina, M – Falha Mista	16

Lista de tabelas

Tabela 1– Materiais utilizados, respetiva composição e modo de aplicação 9

Tabela 2 – Valores de resistência adesiva à microtração: média, desvio padrão, mínimo e máximo (MPa) por grupo experimental. Letras em *superscript* iguais indicam semelhança estatística ($p>0,05$)..... 18

Tabela A. 1 – Testes de *Shapiro-Wilk* para avaliação da normalidade da distribuição de valores.....I

Tabela A. 2 - Testes de *Levene* para avaliação de homogeneidade da variânciaI

Tabela A. 3 – Teste ANOVA de duas dimensões para análise dos valores de microtração entre os grupos experimentais.....III

Abreviaturas

μTBS – forças de microtração (*microtensile bond strength*)

4- Meta –Ácido 4-metacriloiloxietil trimelítico (*4-methacryloyloxyethyl trimellitic acid*)

Bis-EMA – Bisfenol A di-glicil metacrilato etoxilado (*Ethoxylated bisphenol A glycol dimethacrylate*)

Bis-GMA - Bisfenol A glicidil metacrilato (*Bisphenol A Glycidyl Methacrylate*)

ER – Etch-and-rinse

HEMA - 2-hidroxietil metacrilato

LED - díodo emissor de luz (*light-emitting diode*)

MDP - monómero metacriloxidecil fosfato (*10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate monomer*)

SE – Self etch

SEM - microscópio eletrônico de varrimento (*scanning electron microscope*)

UDMA – Uretano dimetacrilato (*Urethane Dimethacrylate*)

Símbolos

% - Percentagem

pH – Potencial de hidrogénio

N – Tamanho da população

n – Tamanho da amostra

p – Probabilidade de Significância

α – Nível de significância

β – Poder da amostra

C – Constante da fórmula de Snedecor e Cochran (Clark, 1991) dependente de α e β

s – Desvio-padrão na fórmula de Snedecor e Cochran (Clark, 1991)

d – Diferença a ser detetada na fórmula de Snedecor e Cochran (Clark, 1991)

Unidades

rpm – rotação por minuto - unidade de velocidade angular

cmH₂O – centímetros de água - unidade de pressão

mmHg – milímetros de mercúrio – unidade de pressão

μm – micrómetros - unidade de medida

Estudo *in vitro* da adesão à dentina promovida por um sistema universal – *All-Bond*
Universal – com e sem pressão pulpar

°C – graus Celsius - unidade de temperatura

nm – nanómetros - unidade de medida

mm – milímetros - unidade de medida

mm² – milímetros quadrados - unidade de área

MPa – megapascal - unidade de pressão

mW/cm² – *microwatt* por centímetro quadrado - unidade de intensidade de radiação

M – mol/dm³ - unidade de concentração molar

mL – mililitros - unidade de volume

kV – quilovolts - unidade de tensão elétrica

1. Introdução

As restaurações dentárias adesivas devem conseguir um contacto íntimo entre os materiais restauradores e os tecidos dentários (Baier, 1992). Este intuito é conseguido graças à aplicação de soluções de monómeros de resina, designadas de adesivos, que unem o substrato dentário ao material restaurador (Perdigão, 2007).

Desde que Buonocore introduziu o ataque ácido ao esmalte com ácido fosfórico a 85% de forma a aumentar a área de superfície do substrato (Buonocore, 1955), outras pesquisas surgiram, de forma a demonstrar que a adesão ocorria graças às retenções micromecânicas formadas ao nível do substrato (Buonocore, 1968), tendo estas pesquisas impulsionado o rápido avanço da técnica adesiva até aos dias de hoje (Van Meerbeek *et al.*, 2011).

A adesão ao esmalte é fiável, uma vez que este é constituído maioritariamente por cristais de hidroxiapatite (Asmussen & Uno, 1992) ao contrário do que acontece na dentina.

Assim, promover uma adesão ideal à dentina é difícil, devido à sua natureza húmida e orgânica, (Pashley, 1992) sendo esta um composto biológico poroso que contém uma grande quantidade de água e uma matriz de colagénio (Pashley, 1996) que promove o suporte dos cristais de hidroxiapatite (Pashley, 1992).

Os sistemas adesivos são classificados em *Etch-and-rinse* (ER) e *Self etch* (SE) (Van Landuyt *et al.*, 2007) consoante a sua forma de interação com a “*smear layer*” (Perdigão 2002; Perdigão, 2010; Sezinando, 2014). Esta é uma camada constituída principalmente por hidroxiapatite e colagénio desnaturado (Bower *et al.*, 1984), originada quando a estrutura dentária é cortada, (Bowen *et al.*, 1984; Eick *et al.*, 1970) cobrindo o esmalte e a dentina e ocluindo os túbulos dentinários (Perdigão, 2007).

Os sistemas adesivos ER, removem totalmente a “*smear layer*” e desmineralizam a porção inorgânica do substrato dentário (Perdigão, 2007), deixando expostas as fibras de colagénio (Sezinando, 2014, Pashley *et al.*, 1993). O condicionamento ácido é realizado através da aplicação do ácido fosfórico em concentrações entre 30% e 40% (pH=0.1-0.4) durante 15 segundos, (Perdigão, 2002; Sezinando, 2014, Van Meerbeek *et al.*, 2003.) resultando numa profundidade de desmineralização da dentina entre os 8 e os 10 µm (Schulze *et al.*, 2005). Seguidamente procede-se à lavagem do agente condicionante, sendo a água um suporte à rede de colagénio (Perdigão *et al.*, 2013). Esta água deve ser

evaporada, sendo este o passo mais crítico desta técnica (Van Meerbeek *et al.*, 2003), uma vez que não se deve desidratar totalmente a dentina, para evitar o colapso das fibras de colagénio que comprometerá os passos seguintes (Kanca, 1992). Por outro lado, não deve ser deixada água em excesso para evitar que haja diluição do monómero, (Tay & Pashley, 2003) comprometendo também dessa forma a adesão (Hashimoto *et al.*, 2006).

Para a técnica ER de 3 passos, o segundo procedimento consiste na aplicação do *primer* que contém monómeros hidrofílicos como o HEMA, capaz de estabilizar as fibras de colagénio, (Van Meerbeek *et al.*, 2003) e que contém um solvente, podendo este ser água, álcool ou acetona (Van Landuyt *et al.*, 2007). Este diminui a viscosidade da solução, permitindo deslocar a água na rede de colagénio da dentina, levando à infiltração do monómero (Nakajima *et al.*, 2002). No terceiro passo desta técnica é aplicado o adesivo que contém monómeros hidrofóbicos que se difundem pela rede de colagénio já estabilizada, ligando-se ao HEMA (Nakabayashi & Takarada, 1992) e ao serem polimerizados em conjunto formam a camada híbrida (Nakabayashi *et al.*, 1982; Van Meerbeek *et al.*, 1992). Esta é a principal responsável pela adesão micromecânica das restaurações, sendo formada pela matriz de colagénio, hidroxiapatite e pelos monómeros hidrofílicos e hidrofóbicos (Nakabayashi *et al.*, 1982).

Quanto à técnica ER de 2 passos, esta difere da convencional, uma vez que o segundo passo consiste na aplicação de uma solução constituída por *primer* e adesivo, que combina monómeros hidrofílicos com monómeros hidrofóbicos. (Van Landuyt *et al.*, 2007) Na técnica adesiva do tipo SE, o condicionamento ácido é feito à custa de um *primer* de monómeros acídicos que alteram a “*smear layer*”, ocorrendo a infiltração da resina simultaneamente ao processo de desmineralização do substrato dentinário. (Schulze *et al.*, 2005; Van Meerbeek *et al.*, 2003; Van Meerbeek *et al.*, 2011). Desta forma a camada híbrida formada por este grupo de adesivos além de ter os mesmos constituintes da formada pelos ER incorpora também constituintes da “*smear layer*”. (Van Meerbeek *et al.*, 2003)

A observação em SEM permite analisar a morfologia da camada híbrida, bem como os prolongamentos de resina obtidos com os diferentes sistemas adesivos (Anchieta *et al.*, 2015), mostrando que os ER formam camadas híbridas mais espessas e prolongamentos de resina mais longos quando comparados com os SE (Hegde *et al.*, 2012).

A capacidade auto-condicionante do *primer* dos SE é conseguida graças à presença de água no solvente, (Moszner *et al.*, 2005) uma vez que é fundamental um meio hidratado para permitir a ionização (Van Meerbeek *et al.*, 2011) dos monómeros acídicos formando o ião H_3O^+ (ião hidrónio) que promove a desmineralização da hidroxiapatite (Salz *et al.*, 2005).

Os adesivos SE podem ser classificados de acordo com o seu pH em: Forte ($pH \leq 1$) que permite a desmineralização de alguns micrómetros de profundidade na dentina e esmalte; Moderado ($1 < pH < 2$) desmineralizando entre 1 a 2 μm ; Suave ($pH = 2$) que leva a uma desmineralização de 1 μm ; Ultra-suave ($pH > 2,5$) que permite uma desmineralização de alguns nanómetros. (Sezinando, 2014; Van Meerbeek *et al.*, 2011; Tay & Pashley, 2001)

A técnica deste grupo de adesivos revelou ser menos sensível, permitindo menos erros do operador, não existindo o risco de colapso das fibras de colagénio após uma secagem excessiva como ocorre nos ER. (Van Meerbeek *et al.*, 2011; Schulze *et al.*, 2005; Oliveira *et al.*, 2004). Os adesivos auto-condicionantes têm demonstrado bons resultados a longo prazo quanto à adesão à dentina. No entanto estes não são eficazes no que diz respeito ao condicionamento do esmalte, salvo a exceção dos SE fortes, (Cho & Dicknens, 2004; Taschner *et al.*, 2010; Perdigão *et al.*, 1997). Todavia, estes últimos, apesar de dissolverem quase a totalidade da *smear layer*, não são capazes de remover o precipitado de fosfato de cálcio levando a um deficiente envolvimento da rede de colagénio desmineralizada pela resina, tendo como consequência o enfraquecimento da adesão a longo prazo. (Van Meerbeek *et al.*, 2011)

Dentro do grupo de adesivos SE existem os convencionais, de dois passos, sendo o primeiro a aplicação do *primer* de monómeros funcionais acídicos e o segundo a aplicação do adesivo constituído por monómeros hidrofóbicos. Quanto aos sistemas simplificados, de um passo, estes podem também designado de “*all-in-one*”. Nestes, o *primer* e a resina hidrofóbica do adesivo são aplicados em conjunto numa solução única, condicionando ao mesmo tempo que penetra o substrato dentário. (Breschi *et al.*, 2008; Perdigão, 2007; Sezinando *et al.*, 2014; Van Meerbeek *et al.*, 2011)

Em ambos os sistemas adesivos simplificados, ocorre a ausência de uma camada hidrófoba individualizada, o que leva a que a camada híbrida se comporte como uma membrana semipermeável, pelo que a água proveniente tanto da margem da restauração (Tay *et al.*, 2002) como do fluído dentinário, devido ao gradiente de pressão pulpar, terá

facilidade em passar, o que trará consequências na polimerização, favorecendo também a hidrólise ao contactar com os monómeros, comprometendo a longevidade da adesão (De Munck *et al.*, 2003; Hashimoto *et al.*, 2003). Desta forma, os sistemas convencionais devem ser preferidos em detrimento dos simplificados, demonstrando estes um melhor desempenho clínico e laboratorial (Peumans *et al.*, 2005).

Existe uma crescente preocupação entre os fabricantes para continuar a simplificar os sistemas adesivos de um único frasco para satisfazer a demanda dos clínicos em obter procedimentos adesivos que sejam mais rápidos, menos sensíveis à técnica e mais fáceis de aplicar (De Munck *et al.*, 2005; Van Meerbeek *et al.*, 2011).

Mais recentemente surgiram os adesivos universais ou “*multi-mode*”, assim designados uma vez que podem ser aplicados segundo a técnica ER ou SE. (Perdigão & Swift, 2015; Perdigão *et al.*, 2014; Perdigão & Loguercio, 2014). Os fabricantes também sugerem que este sistema adesivo possa ser utilizado segundo a técnica de condicionamento seletivo do esmalte, que consiste na aplicação de ácido fosfórico nas margens em esmalte e utilização da técnica SE ao nível da dentina (Luque-Martinez *et al.*, 2014 Perdigão & Swift, 2015). Desta forma, permite que o operador opte pela técnica que melhor se adequa à cavidade preparada. (Hanabusa *et al.*, 2012)

Os fabricantes afirmam que, para além da capacidade de adesão aos tecidos dentários e às resinas compostas, este grupo pode ser utilizado sobre outros substratos como as cerâmicas feldspáticas, zircónias e metais. (Alex, 2015)

Os adesivos universais apresentam na sua composição monómeros funcionais fosfatados como o 10- MDP, e/ou carboxilatos, que são capazes de se ligar ionicamente ao cálcio da hidroxiapatite, (Yoshida *et al.*, 2004; Yoshida *et al.*, 2012; Yoshihara *et al.*, 2013) promovendo uma adesão química entre o adesivo e o substrato que parece ser um fator determinante para a estabilidade e durabilidade da adesão (Yoshida *et al.*, 2012).

Esta molécula que inicialmente foi patenteada pela Kuraray no adesivo Clearfil SE (Sezinando, 2014), pode interagir ionicamente com o cálcio da hidroxiapatite e formar sais de 10-MDP-cálcio hidroliticamente estáveis (Van Meerbeek *et al.*, 2011) que têm a capacidade de ligar duas moléculas de 10-MDP formando uma nanocamada (Yoshida *et al.*, 2012) que aumenta a resistência mecânica da interface adesiva a longo prazo. (Perdigão, 2007; Yoshida *et al.*, 2012).

Apesar dos benefícios clínicos dos adesivos universais, provavelmente terão um padrão de degradação hidrolítica semelhante à dos adesivos simplificados (Perdigão &

Loguercio, 2014; Tay & Pashley, 2003) uma vez que a camada híbrida formada comporta-se também como uma membrana semipermeável (Sezinado, 2014) que, como tal, permitirá a exsudação de fluído dentinário. (Tay *et al.*, 2004) A passagem do fluído através da camada de adesivo polimerizado sobre a dentina tem sido observada *in vitro* e *in vivo*, previamente à aplicação da resina composta. (Chersoni *et al.*, 2004)

A pressão pulpar leva à presença de água na dentina na forma de fluído dentinário, que influencia a polimerização e impregnação dos monómeros de resina (Sauro *et al.*, 2007), tendo sido demonstrado que compromete potencialmente a eficácia dos sistemas adesivos (Mahdan *et al.*, 2013)

Estima-se que o valor da pressão pulpar positiva para um dente vital é 77 cmH₂O, promovendo desta forma o fluxo do fluído nos túbulos dentinários desde o órgão pulpar até ao exterior. (Brown & Yankowit, 1964; Van Hassel, 1971; Ciucchi *et al.*, 1995; Pashley & Carvalho, 1997; Sauro *et al.*, 2007)

A permeabilidade dentinária pode, no entanto, ser influenciada por condições clínicas, fisiológicas (Van Hassel, 1971, Reeder *et al.*, 1978) e pela distância a que a porção de dentina se encontra do órgão pulpar (Perdigão, 2010).

2. Objetivos

Este estudo *in vitro* tem como objetivo averiguar se o modo de aplicação, *etch-and-rinse* e *self-etch*, e a presença de pressão pulpar positiva têm influência na morfologia da camada híbrida bem como nas forças de resistência adesiva obtidas às 24 horas aquando da utilização de um adesivo universal.

O objetivo geral foi conseguido através dos objetivos específicos que se seguem:

1. Comparar a morfologia da interface adesiva criada pelo sistema adesivo em modo *etch-and-rinse* e *self-etch*, sem a aplicação de pressão pulpar.

H₀: Não se verificam diferenças na morfologia da interface adesiva entre as duas estratégias adesivas.

H₁: Verificam diferenças na morfologia da interface adesiva entre as duas estratégias adesivas.

2. Comparar a morfologia da interface adesiva criada pelo sistema adesivo em modo *etch-and-rinse*, com e sem a aplicação de pressão pulpar.

H₀: Não se verificam diferenças na morfologia da interface adesiva criada pelo sistema adesivo em modo *etch-and-rinse*, com e sem a aplicação de pressão pulpar.

H₁: Verificam diferenças na morfologia da interface adesiva criada pelo sistema adesivo em modo *etch-and-rinse*, com e sem a aplicação de pressão pulpar.

3. Comparar a morfologia da interface adesiva criada pelo sistema adesivo em modo *self-etch*, com e sem a aplicação de pressão pulpar.

H₀: Não se verificam diferenças na morfologia da interface adesiva criada pelo sistema adesivo em modo *self-etch*, com e sem a aplicação de pressão pulpar.

H₁: Verificam diferenças na morfologia da interface adesiva criada pelo sistema adesivo em modo *self-etch*, com e sem a aplicação de pressão pulpar.

4. Analisar a influência do modo de aplicação do adesivo, nos valores de resistência adesiva, sem pressão pulpar.

Estudo *in vitro* da adesão à dentina promovida por um sistema universal – *All-Bond*
Universal – com e sem pressão pulpar

H₀: Não se verificam diferenças significativas nos valores de resistência adesiva obtidos com os dois tipos de estratégia adesiva.

H₁: Verificam-se diferenças significativas nos valores de resistência adesiva obtidos com os dois tipos de estratégia adesiva.

5. Analisar a influência da aplicação de pressão pulpar nos valores de resistência adesiva, quando o adesivo é aplicado em modo *etch-and-rinse*.

H₀: Não se verificam diferenças significativas nos valores de resistência adesiva obtidos com e sem aplicação de pressão pulpar.

H₁: Verificam diferenças significativas nos valores de resistência adesiva obtidos com e sem aplicação de pressão pulpar..

6. Analisar a influência da aplicação de pressão pulpar nos valores de resistência adesiva, quando o adesivo é aplicado em modo *self-etch*.

H₀: Não se verificam diferenças significativas nos valores de resistência adesiva obtidos com e sem aplicação de pressão pulpar.

H₁: Verificam-se diferenças significativas nos valores de resistência adesiva obtidos com e sem aplicação de pressão pulpar.

3. Materiais e métodos

3.1. Desenho experimental

O tamanho da amostra (n) foi determinado utilizando a fórmula de Snedecor & Cochran: $n = 1 + 2C(s/d)^2$, em que s representa o desvio padrão, d a diferença a ser detetada e C (7,85) uma constante dependente dos valores de α (5%) e β (80%). (Clark, 1991)

De acordo com os estudos previamente efetuados dentro desta linha de investigação (Ramos, 2016; Rodrigues, 2016) determinamos um desvio padrão (s) de 6MPa, e uma diferença (d) de 6MPa para um tamanho da amostra (n) de 10.

Cada dente foi seccionado de modo a obter um disco de dentina, sendo depois distribuído por um dos 4 grupos, de acordo com o protocolo proposto (Fig.1):

- Grupo A: sistema adesivo com a estratégia *etch&rinse*;
- Grupo B: sistema adesivo com a estratégia *self-etch*;
- Grupo C: sistema adesivo com a estratégia *etch&rinse*, submetido a pressão pulpar;
- Grupo D: sistema adesivo com a estratégia *self-etch*, submetido a pressão pulpar.

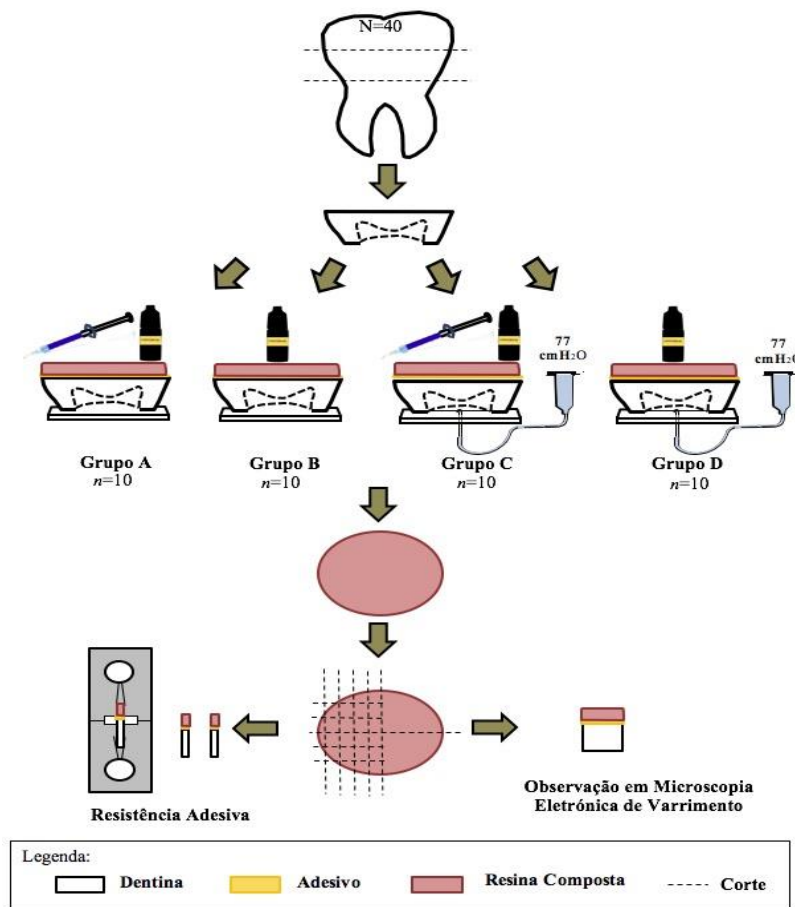


Figura 1 - Esquema representativo do estudo.

Estudo *in vitro* da adesão à dentina promovida por um sistema universal – *All-Bond Universal* – com e sem pressão pulpar

3.2. Materiais

Os materiais utilizados no presente estudo encontram-se descritos na Tabela 1:

Material	Composição	Modo de aplicação
All-Bond Universal® Bisco dental, EUA Lote: 1500001456 Data de validade: 15/01/2017	MDP (Monómeros metacrilóxidecilo fosfato), Bis-GMA (Bisfenol A glicidil metacrilato), HEMA (2-hidroxietilmetacrilato), etanol/ água e iniciadores. pH = 2,5- 3,5	<i>Etch-and-rinse</i> 1 - Aplicar ácido (15 segundos), lavar com água e remover com um <i>pellet</i> absorvente durante 2 segundos, preparação fica visivelmente húmida; 2 - Aplicar ativamente duas camadas de adesivo (15 segundos cada); evaporar o solvente com seringa de ar (10 segundos), a superfície fica brilhante e sem movimento, caso contrário aplicar nova camada; 3 -Fotopolimerizar 10 segundos. <i>Self-etch</i> 1 - Aplicar ativamente duas camadas de adesivo (15 segundos cada); evaporar o solvente com seringa de ar (10 segundos), a superfície fica brilhante e sem movimento, caso contrário aplicar nova camada; 2 - Fotopolimerizar 10 segundos.
Vococid® Voco GmbH, Alemanha Lote:1535595 Data de validade: 12/2017	Ácido fosfórico a 35% pH = 0,8	1 - Aplicar na superfície de dentina a condicionar, durante 15 segundos. 2 - Lavar e secar com seringa de ar até ser removida a água em excesso
Tetric EvoCeram® Bulk Fill Ivoclar Vivadent, Liechtenstein Lote: S03808 Data de validade: 01/2017	Bis-GMA, UDMA, Bis-EMA (17-18% do peso), vidro de bário, trifluoreto de itérbio, óxidos mistos (79-81% do peso), catalisadores, estabilizadores e pigmentos. Tamanho das partículas: 40-3000nm, tamanho médio: 550nm.	1 - Após aplicação do sistema adesivo, colocar uma camada de 2mm sobre o preparo. 2 - Fotopolimerizar 20 segundos (mínimo 500mW/cm ²)

Tabela 1– Materiais utilizados, respetiva composição e modo de aplicação.

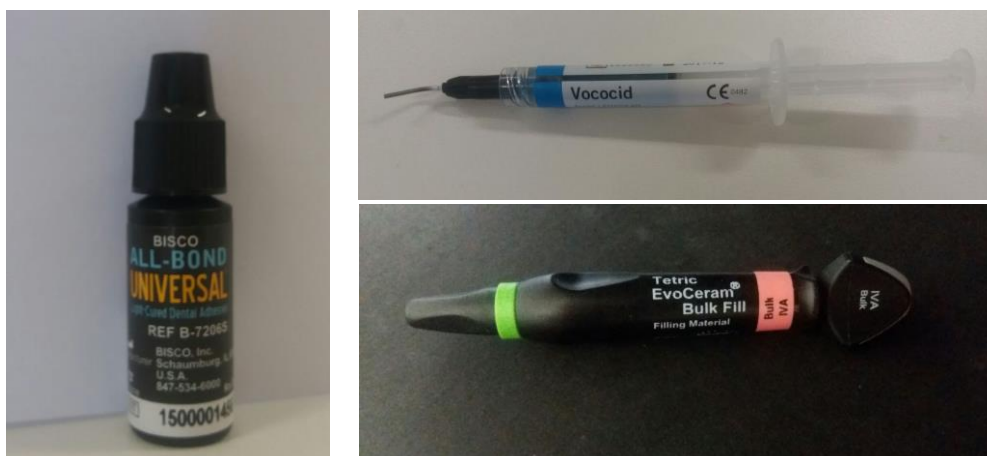


Figura 2– Materiais utilizados.

3.3. Preparação dos espécimes

Para a realização deste estudo, foram utilizados 40 molares humanos, íntegros (não cariados e não restaurados), após armazenamento numa solução de 0,5% Cloramina T a uma temperatura de cerca de 4°C por um período máximo de 6 meses. A recolha dos dentes foi realizada sem identificação dos dadores, estando aprovada pela comissão de ética da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa.

Para a obtenção de discos de dentina com uma espessura de 2 mm desde o topo do corno pulpar mais longo até à superfície oclusal, as raízes e o terço oclusal foram removidos utilizando-se um disco de corte impregnado de diamante (Lapcraft, OH, EUA; 4" x .012" x ½"), a 400 rpm numa máquina de corte Isomet 1000 Precision Saw (nº série 666-IPS-03518; Buehler, Lake Bluff, IL, EUA). A polpa foi removida e o polimento da superfície oclusal foi efetuado com lixa de grão 600 (Buehler, Lake Bluff, EUA) sendo posteriormente produzida uma *smear-layer* padronizada com uma lixa de grão 320 (Ref.: 30-5218-320; Buehler, Lake Bluff, IL, EUA), durante 2 minutos.

Os discos de dentina obtidos foram distribuídos de forma aleatória pelos quatro grupos experimentais.

Para simular a pressão pulpar, foi utilizado um dispositivo (Fig. 2) com base no elaborado por Sauro *et al.* que permite simular a pressão pulpar positiva durante a aplicação do adesivo. (Sauro *et al.*, 2007) Para este efeito, cada espécime dos grupos C e D foi colado a uma placa de acrílico com cianoacrilato (Loctite®, Super Cola3, Portugal), sendo a câmara pulpar ligada a um sistema de pressão hidráulico a 77cmH₂O, por intermédio de uma agulha 18G. Cada espécime foi submetido à referida pressão durante 10 minutos, com o objetivo de toda a câmara pulpar e túbulos dentinários serem preenchidos com água destilada. Os procedimentos de adesão foram efetuados, de seguida, com os espécimes ligados ao referido dispositivo.

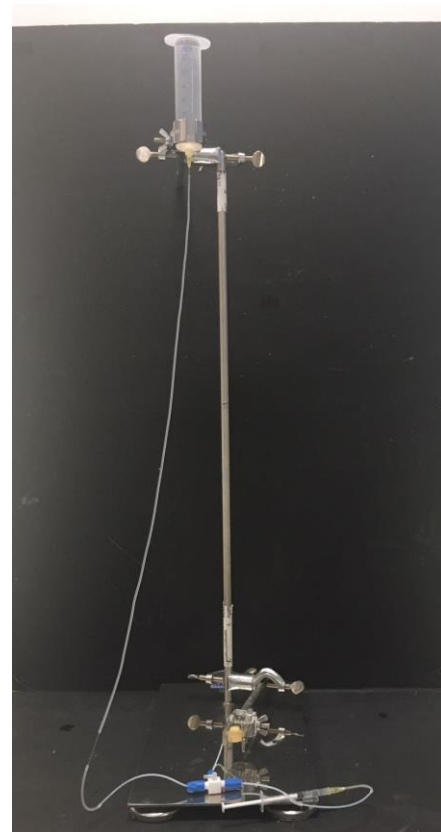


Figura 3– Dispositivo de pressão pulpar.

Nos grupos cujos procedimentos adesivos foram do tipo *etch&rinse*, procedeu-se ao condicionamento ácido da superfície de dentina com ácido fosfórico a 35% (Vococid[®], Voco, Alemanha), previamente à aplicação do adesivo, seguindo-se as instruções do fabricante do sistema adesivo. Posteriormente à realização dos procedimentos adesivos (*All-Bond Universal*[®], Bisco Dental, EUA) a superfície de cada espécime foi fotopolimerizada (1200 mW/cm², Bluephase[®]20i, LED *curing ligh*t, n^o de série 506160, Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein), seguindo as instruções do fabricante do sistema adesivo (Tab. 1). Seguidamente, foram executados três incrementos de 2mm de resina composta nanohíbrida (Tetric EvoCeram[®] Bulk Fill, Ivoclar Vivadent, Liechtenstein), em que os dois primeiros incrementos foram fotopolimerizados, durante 20 segundos, sendo o último incremento fotopolimerizado durante 40 segundos.

Nos grupos em que os procedimentos adesivos foram do tipo *self-etch*, o adesivo foi aplicado sobre a superfície do disco de dentina, sem condicionamento prévio, seguindo as instruções do fabricante. O procedimento restaurador com resina composta foi realizado de igual forma ao descrito para o grupo anterior.

Os espécimes dos 4 grupos foram conservados em água destilada a 37°C durante 24 horas, período após o qual foram divididos em duas metades com uma secção longitudinal utilizando-se um disco de corte impregnado de diamante (Lapcraft, OH, EUA; 4” x .012” x ½”), a 200 rpm numa máquina de corte Isomet 1000 Precision Saw (n^o série 666-IPS-03518; Buehler, Lake Bluff, IL, EUA), com refrigeração. Uma das metades obtidas foi cortada nos sentidos mesio-distal e vestibulo-lingual de forma a obter palitos de resina-dentina com uma área seccional de cerca 1mm² para a realização dos testes de resistência adesiva à microtração. A outra metade foi novamente submetida a um corte no sentido longitudinal, obtendo-se dois quartos do espécime inicial, sendo cada um dos quartos obtidos preparado para observação da interface adesiva em microscopia eletrónica.

3.4. Caracterização morfológica da interface adesiva com microscopia eletrónica de varrimento (SEM)

Três espécimes de cada grupo (escolhidos aleatoriamente) foram preparados com submersão em glutaraldeído 2,5% e paraformol 2% durante 24 horas, a 4°C e submersos em três banhos sucessivos, de 20 minutos cada, de cacodilato de sódio 0,1M.

A superfície da interface adesiva foi polida com lixas Silicon-Carbide (Ref. 30-5218; Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) de abrasividade decrescente: grão 120; 400; 500;

1000; 2500, sucessivamente, durante 30 segundos cada, sendo a passagem entre cada abrasividade diferente intercalada, por um banho ultrassônico (Branson[®]Sonic Bath, modelo M2800-E, número de série BHS021631000B, Branson Ultrasonic Corporation, Danbury, EUA), de álcool a 96% durante 1 minuto. Posteriormente, os espécimes foram polidos com suspensões de diamante (Meta Di[®] Monocrystalline Diamond Suspension, Buehler, Lake Bluff, EUA) de grão 6 µm, 3 µm e 1 µm durante 60 segundos cada, em panos de feltro (Whitefelt; Ref.162002; Buhler, Lake Bluff, IL, EUA) para polimento, sendo a transição entre cada uma das pastas intercalada por uma lavagem com água destilada, seguida de um banho de ultrassons.

Com o objetivo de expor a camada híbrida, os espécimes foram colocados em ácido hidrocloreídrico 0,1M, durante 90 segundos, sendo de seguida mergulhados em hipoclorito de sódio a 10% durante 60 segundos. Após cada imersão os espécimes foram lavados com água destilada durante 30 segundos, e no final foram ainda colocados num banho de ultrassons com água destilada durante 60 segundos.

A desidratação dos espécimes foi feita com concentrações crescentes de etanol: 25% - 1 minuto, 50% - 20 minutos, 75% - 20 minutos, 96% - 30 minutos e 100% - 60 minutos, e submersão em hexametildisilazano (Ref.: 440191-1L; Sigma Aldrich) - 10 minutos e deixados secar sobre um papel de feltro (Whitefelt; Ref.162002; Buhler, Lake Bluff, IL, EUA), à temperatura ambiente, durante 12 horas.

Os espécimes foram colados em discos de alumínio com fita de carbono de dupla face (NEM TAPE, Nisshin Em.Co, Ltd., Japão) e processados numa metalizadora com atmosfera de árgon e 200nm de ouro/paládio, (JEOL Fine Coat Ion Sputter JFC-1100E, n° série SM333132-670, Tóquio, Japão).

Foram realizadas as observações num SEM (Hitachi S-450, n.º série 5333884, Tóquio, Japão) com eletrões secundários, a 20kV, sendo captadas microfotografias da interface adesiva com ampliações 2000x em todos os espécimes e em espécimes que apresentavam uma interface muito heterogénea foram feitas microfotografias com ampliações diferentes. As imagens foram obtidas com o *software* Esprit 1.8.2.2167 (Bruker, MA, EUA).

3.5. Ensaio de resistência adesiva à microtração

Cada espécime (palito) foi colado individualmente num *jig* de *Geraldelli* (Fig.4) de aço inoxidável, com cola de cianoacrilato (Permabond[®] 737 black magic toughened

Estudo *in vitro* da adesão à dentina promovida por um sistema universal – *All-Bond*
Universal – com e sem pressão pulpar

adhesive, Permabond, UK), sendo submetido a forças de tração na máquina de Teste Universal (4500, Instron, Grove City, PA, EUA), com uma célula de carga de 1kN, a uma velocidade de 1mm/minuto até ocorrer a fratura.



Figura 4– Jig de Geraldeli com espécime

Foi calculado o valor de μ TBS pelo programa Series IX (Series IX, Automated materials test system, versão 8.34.00, nº série 21744H, Instron Corporation, Grove City, PA, EUA), através da razão entre a carga efetuada no momento da fratura e a área de adesão, exprimido em MPa.

Cada fratura foi observada ao microscópio ótico (Nikon, Japão) com uma ampliação de 10x, tendo sido caracterizada como: Adesiva (A) – quando a fratura ocorreu na interface adesiva; Coesiva de compósito (CC) – quando a fratura ocorreu na resina composta; Coesiva de dentina (CD) – quando a fratura ocorreu na dentina; Mista (M) - quando a fratura ocorreu na interface adesiva mas com falha de várias estruturas.

3.6. Análise estatística

Para a realização da análise estatística dos valores de microtração foi realizado o cálculo da média dos valores de microtração e o desvio-padrão para cada grupo com recurso ao programa SPSS (Statistic Package for Social Sciences; IBM SPSS statistics, version 24.0).

De forma a avaliar a normalidade da distribuição e a homogeneidade das variâncias utilizaram-se os testes de *Shapiro-Wilk* e *Levene*, respetivamente.

Uma vez garantida a normalidade e homogeneidade foi utilizado o teste paramétrico ANOVA de duas dimensões para comparações múltiplas entre os grupos experimentais. O nível de significância estatística foi fixado em 5%.

4. Resultados

4.1. Caracterização morfológica da interface adesiva em SEM

Nos espécimes do Grupo A (modo *etch-and-rinse*, não sujeitos a pressão pulpar), verificou-se a presença de uma camada híbrida espessa e prolongamentos de resina longos e abundantes, em forma de funil, com prolongamentos acessórios (Fig. 5) ao contrário do que se verificou nos espécimes com modo *self-etch* (Grupo B) em que a camada híbrida é de pequenas dimensões, os prolongamentos de resina são escassos, curtos e sem prolongamentos acessórios (Fig. 6).

Nos espécimes submetidos à pressão pulpar (Grupos C e D) é de notar que a interface adesiva é bastante irregular, e apresenta porosidades (Fig. 7 e 8). Os espécimes do grupo sujeito à pressão pulpar no modo *etch-and-rinse* (Grupo C), apresentam prolongamentos de resina com menores dimensões do que no grupo em que a pressão esteve ausente (Grupo A).

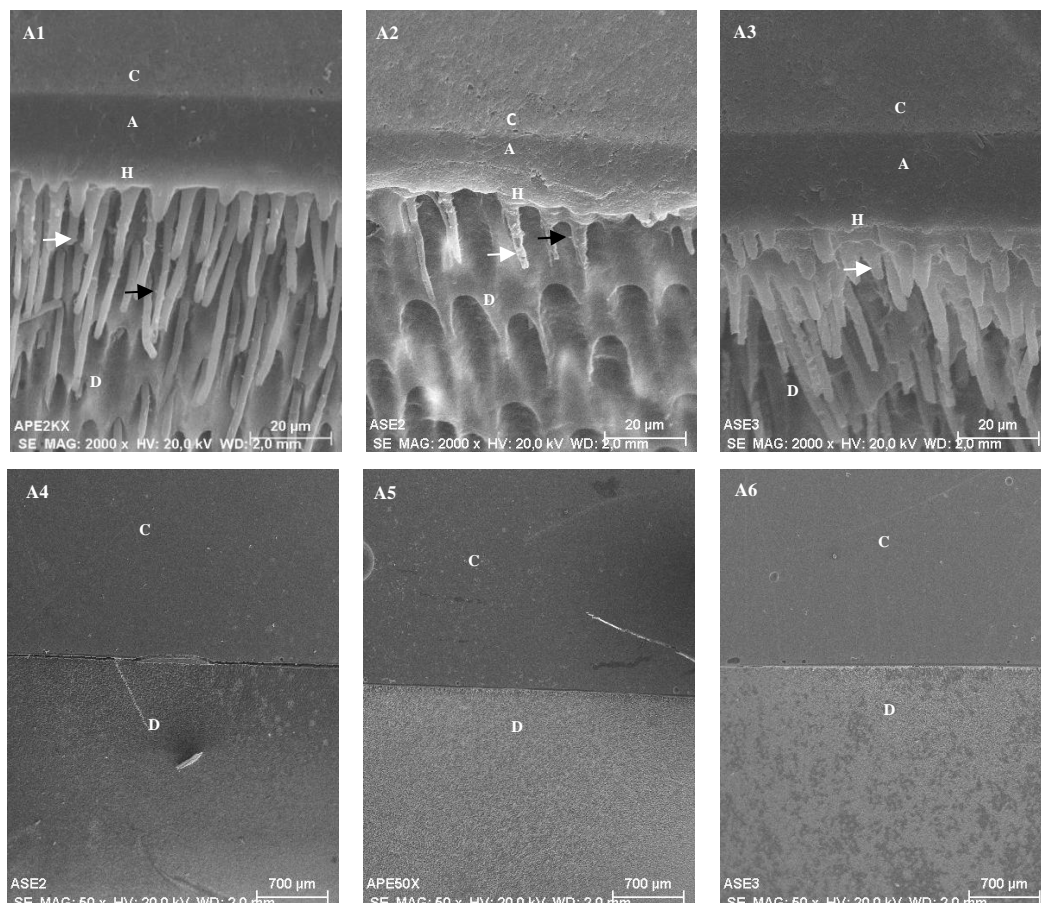


Figura 5 – Imagens obtidas através de SEM da interface adesiva após aplicação do sistema adesivo no modo *etch-and-rinse*, não sujeito a pressão pulpar - Grupo A (A). Imagens A1, A2 e A3 - ampliação 2000x. Imagem A4, A5 e A6 – ampliação – 50x. C- Camada de compósito, A - Camada de adesivo, D- Dentina, H- Camada Híbrida, Seta branca- prolongamento de resina, Seta preta - prolongamento acessório.

Estudo *in vitro* da adesão à dentina promovida por um sistema universal – *All-Bond*
Universal – com e sem pressão pulpar

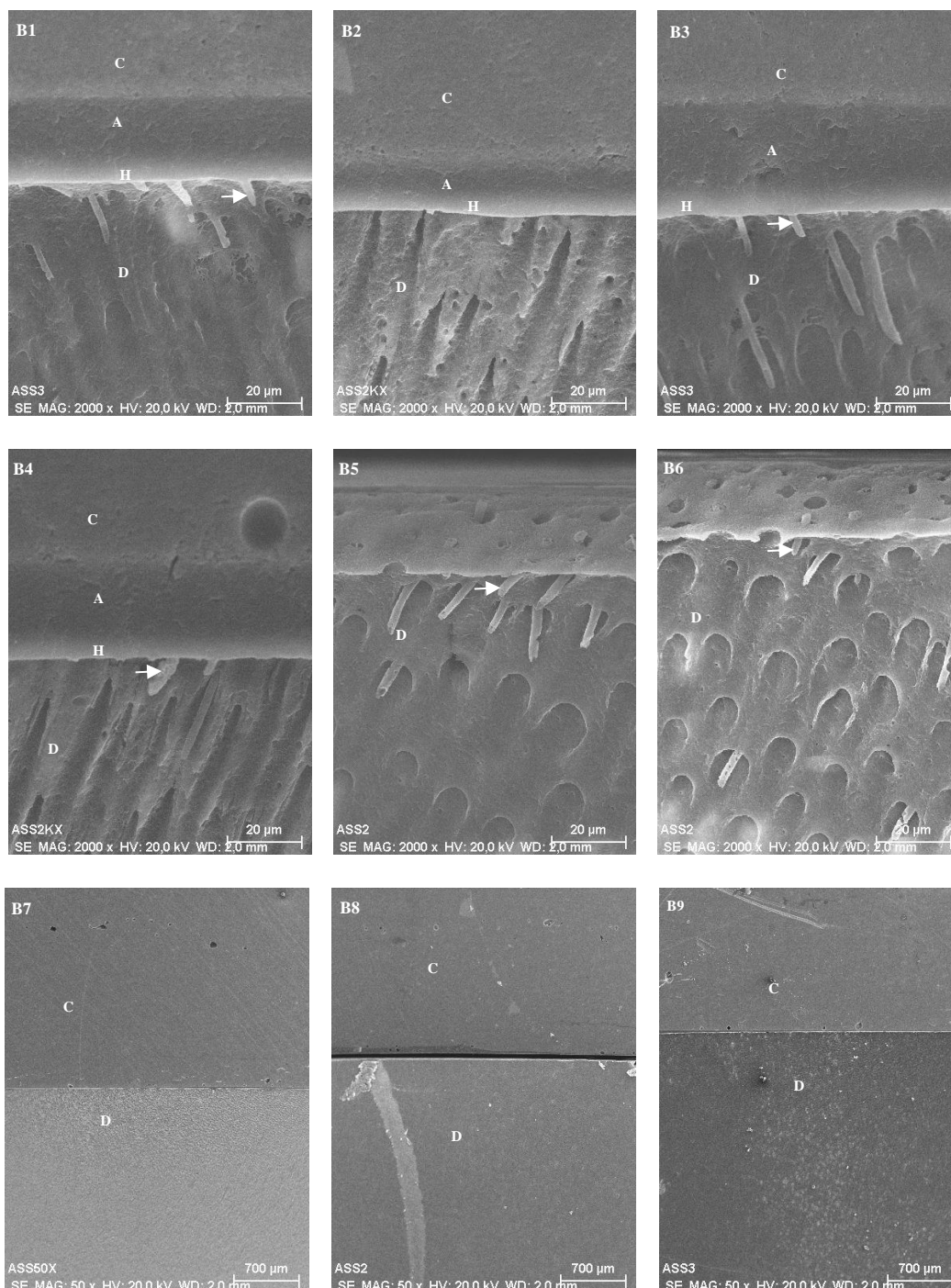


Figura 6 - Imagens obtidas através de SEM da interface adesiva após aplicação do adesivo no modo *self-etch* não sujeito a pressão pulpar Grupo B (B). Imagens B1, B2, B3, B4, B5 e B6 – ampliação 2000X; Imagens B7, B8 e B9- ampliação 50x. C- Camada de Compósito, A - Camada de Adesivo, D - Dentina, H – Camada Híbrida, Seta Branca - Prolongamento de resina.

Estudo *in vitro* da adesão à dentina promovida por um sistema universal – *All-Bond*
Universal – com e sem pressão pulpar

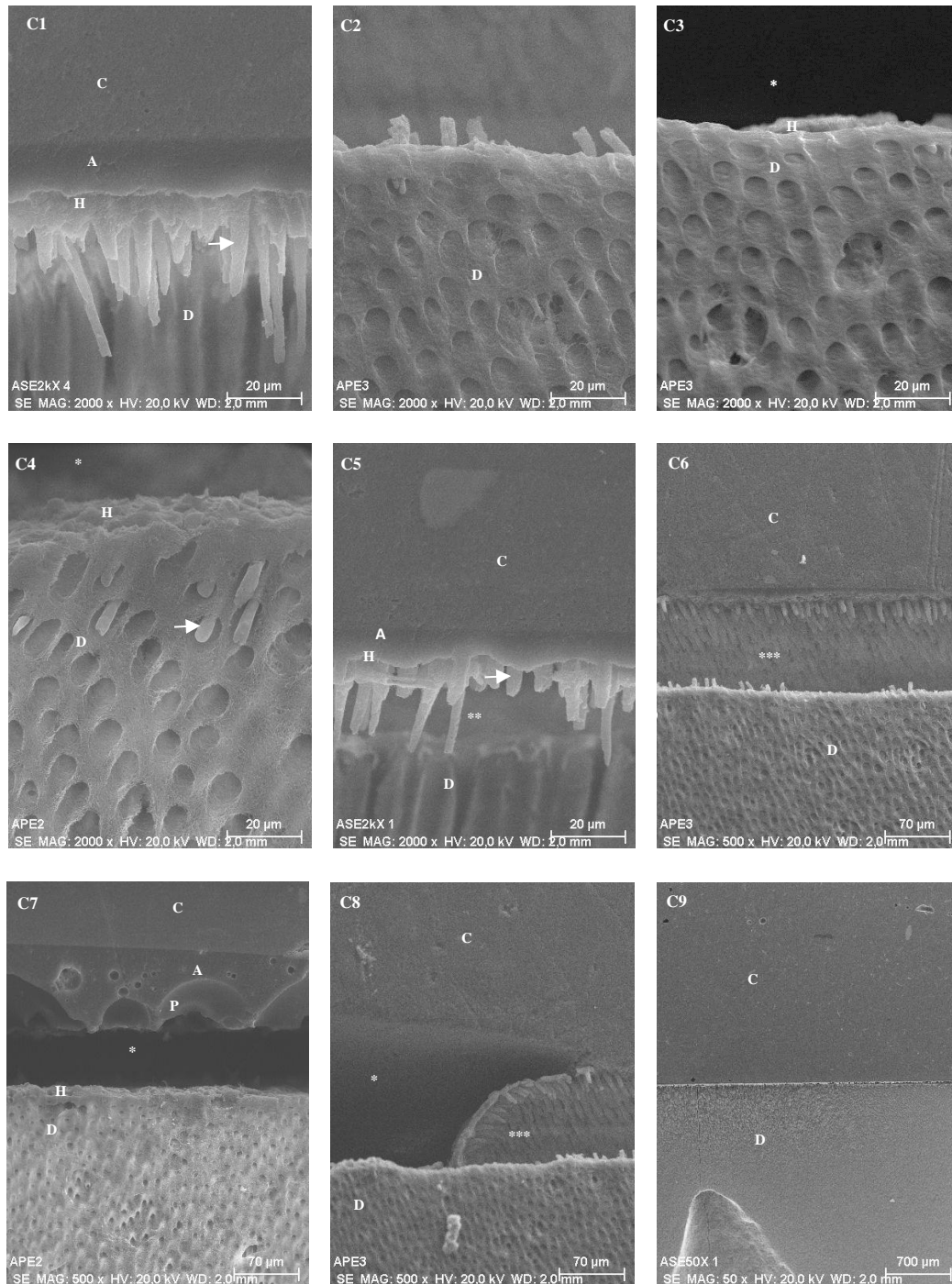


Figura 7 - Imagens obtidas através de SEM da interface adesiva após aplicação do adesivo no modo *etch&rinse* submetido a pressão pulpar positiva, Grupo C (C). Imagens: C1, C2, C3, C4 e C5 – ampliação 2000x; Imagens C6 e C7 e C8 -ampliação 500x; Imagens C9– ampliação 50x. C- Compósito, A – Adesivo, H- Camada Híbrida P –Porosidade, D – Dentina, Seta a branco – Prolongamentos de resina, * - Falha acima da camada híbrida, ** - Falha a baixo da camada híbrida. *** - Falha no seio da camada híbrida.

Estudo *in vitro* da adesão à dentina promovida por um sistema universal – *All-Bond*
Universal – com e sem pressão pulpar

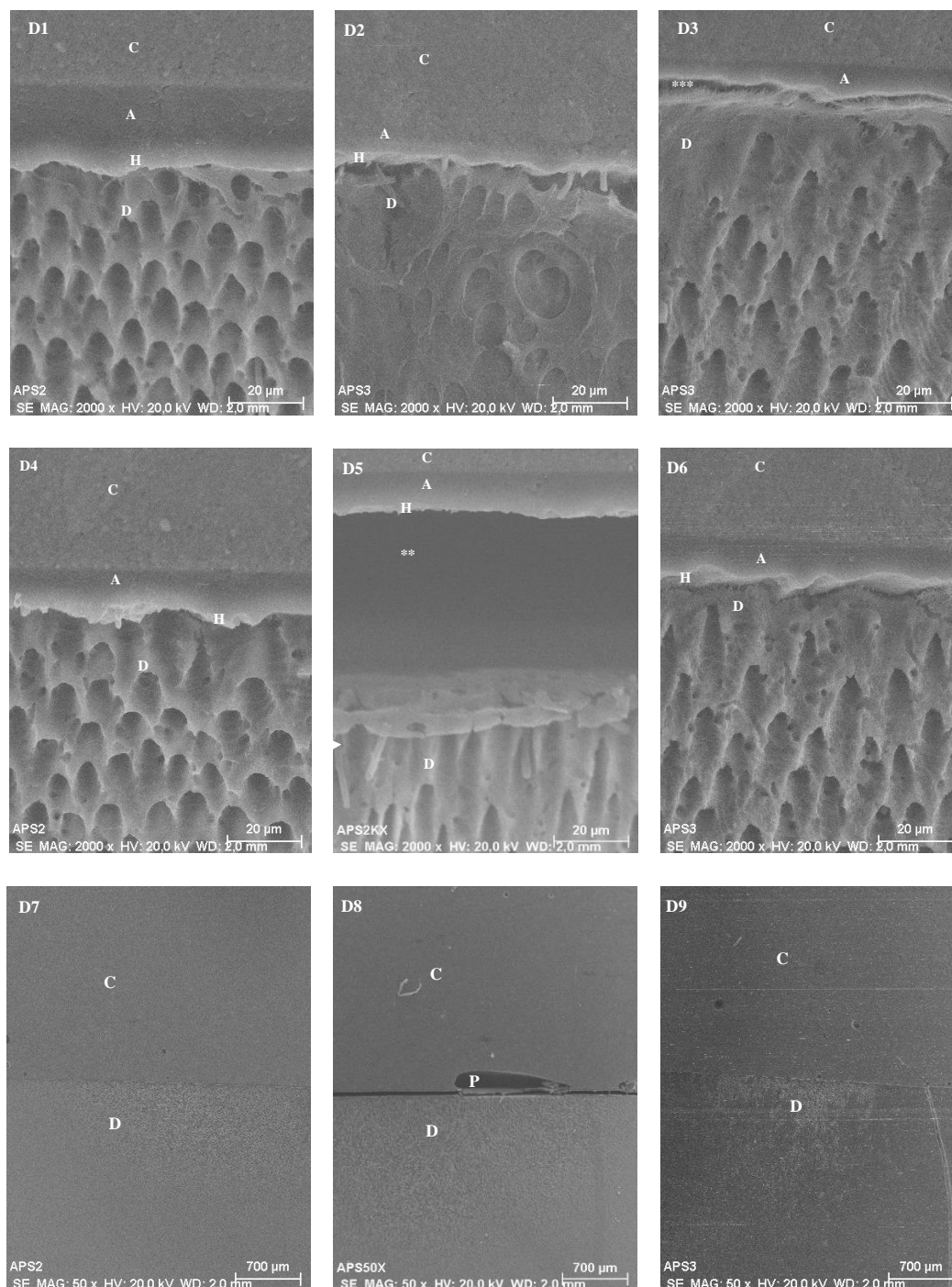


Figura 8 - Imagens obtidas através de SEM da interface adesiva após aplicação do adesivo no modo *self-etch* submetido a pressão pulpar positiva, Grupo D (D). Imagem D1, D2, D3, D4, D5, e D6 – ampliação 2000x; Imagens D7, D8 e D9 - ampliação 50x. C- Compósito, A – Adesivo, H- Camada Híbrida, P- Porosidade, ** - Falha a baixo da camada híbrida.

4.2. Análise dos valores de microtração

Neste estudo foram obtidos em média 8 palitos para microtração, por dente, tendo sido testados 78 no Grupo A, 76 no Grupo B, 68 no Grupo C e 80 no Grupo D.

Grupos Experimentais	Valores de Microtração			
	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo
GA - All-Bond Universal ER	30,0 ^a	5,9	18,8	39,3
GB - All-Bond Universal SE	21,2 ^a	8,6	9,5	34,4
GC - All-Bond Universal ER e pressão pulpar	28,7 ^a	12,8	10,5	53,6
GD - All-Bond Universal SE e pressão pulpar	25,2 ^a	10,6	12,1	45,5

Tabela 2 – Valores de resistência adesiva à microtração média, desvio padrão, mínimo e máximo (MPa) por grupo experimental. Letras em *superscript* iguais indicam semelhança estatística ($p>0,05$).

Os valores de microtração obtidos (Tab. 2) foram comparados com testes ANOVA de duas dimensões uma vez que se mantiveram os pressupostos de normalidade e homogeneidade (tabelas de análise estatística encontram-se no Anexo A). Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos em que o adesivo foi aplicado através do modo ER ou SE ($p>0,05$). A presença de pressão pulpar também não promoveu diferenças estatisticamente significativas na resistência adesiva à microtração dos espécimes testados ($p>0,05$). Unicamente foi detetada uma tendência para uma diferença entre modos de aplicação do sistema adesivo com um p pouco acima da significância ($p=0,055$).

A percentagem do modo de falha após a microtração está representado no gráfico da Fig. 9. Observou-se uma maior percentagem de falhas adesivas (A) para todos os grupos.

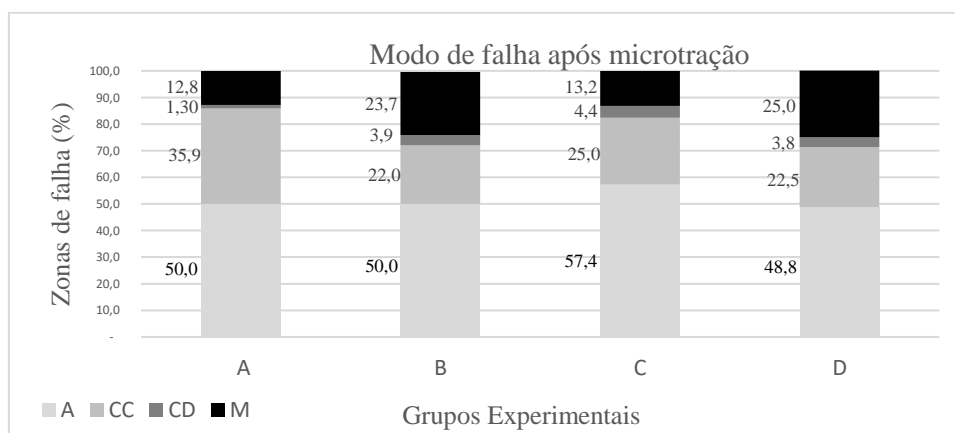


Figura 9 – Gráfico que representa em % as zonas de falha de cada grupo em estudo. A – Falha Adesiva, CC- Falha Coesiva no Compósito, CD – Falha Coesiva na Dentina, M – Falha Mista.

5. Discussão

Os testes de resistência adesiva à dentina *in vitro* executam-se de forma a examinar o desempenho de determinados grupos experimentais, e podem ou não relacionar-se diretamente com o comportamento dos materiais *in vivo* (Miyazaki *et al.*, 1998), é deste modo fundamental que os investigadores tentem mimetizar as condições intra-orais nos estudos laboratoriais.

Neste estudo, com o objetivo de serem obtidas evidências mais representativas das condições clínicas, foi simulada a presença de pressão pulpar positiva, utilizando um dispositivo semelhante ao do estudo de Sauro *et al.*, (Sauro *et al.*, 2007). O valor de pressão pulpar está descrito em vários trabalhos, variando entre 15 a 200 cmH₂O (Ciucchi *et al.*, 1995; Grégoire *et al.*, 2003; Chersoni *et al.*, 2004; Cadenaro *et al.*, 2005; Rosales-leal *et al.*, 2007; Rodrigues *et al.*, 2015). No presente trabalho, considerámos o valor de 77cm H₂O, que resultou da conversão de 56 mmHg, descrito por Brown e Yankowitz no seu estudo *in vivo* (Brown & Yankowitz, 1964).

No entanto, pode ser questionável se o efeito da pressão pulpar simulada neste estudo *in vitro* será semelhante à que os dentes restaurados clinicamente estão sujeitos. Tais diferenças poderão dever-se ao facto de que para este estudo foram incluídos molares hígidos, podendo esta realidade ser diferente do que se verifica *in vivo*, em que a aplicação do sistema adesivo é realizada após remoção da lesão de cárie, e, por conseguinte, a dentina remanescente poderá apresentar características diferentes do tecido dentário saudável (Ghazali, 2003). Os estímulos nocivos, como a lesão de cárie, podem levar à formação de dentina esclerótica, com um maior conteúdo mineral, devido à deposição progressiva de cristais nas paredes dos túbulos dentinários, reduzindo o seu lúmen, podendo inclusivamente ocluí-los (Fusayami *et al.*, 1966). Este fenómeno pode resultar numa redução da permeabilidade (Berggren & Brannstrom, 1965; Pashley *et al.*, 1991), e consequentemente diminuir o efeito da pressão pulpar na superfície dentinária.

Uma outra questão poderia ainda ser colocada quanto à influência da pressão pulpar no momento da restauração, uma vez que esta pode ser reduzida devido ao efeito vasoconstritor do anestésico local (Chng *et al.*, 1996), o que levaria a condições diferentes das que foram simuladas neste estudo. No entanto outras pesquisas indicam que esse efeito é apenas transitório, pelo que clinicamente, no momento do procedimento adesivo, o valor de pressão retorna a valores normais (Beveridge & Brown, 1965; Simard-Savoie *et al.*, 1979; Simard-Savoie *et al.*, 1990).

Mesmo assim, e tendo em conta as variáveis clínicas acima referidas, este método aproxima-se mais das condições *in vivo*, do que a maioria dos estudos em que a pressão pulpar não é simulada.

Por outro lado, e ainda com o objetivo de assemelhar este estudo à realidade clínica, foi utilizada uma lixa de grão 320 que cria uma *smear layer* semelhante à formada pela broca aquando da preparação de cavidades. (Oliveira *et al.*, 2003)

Uma questão a ter em conta relativamente ao método utilizado é o longo e inevitável processamento dos espécimes aquando da sua preparação, não sendo possível prever a magnitude das forças a que foram sujeitos previamente a serem testados. Tal facto pode ter influência nos resultados obtidos (Chen *et al.*, 2015; Van Meerbeek *et al.*, 2011). Desta forma é importante referir que não foram incluídos neste estudo os dados das fraturas prévias aos testes de microtração sendo, no entanto, este número semelhante para os 4 grupos.

Aos serem observados os espécimes em SEM verificou-se que, quando não sujeitos à pressão pulpar, sobre o modo de aplicação ER (Grupo A), a camada híbrida apresenta dimensões mensuráveis com prolongamentos de resina longos, abundantes e em forma de funil, identificando-se também prolongamentos acessórios. Estas características morfológicas devem-se à aplicação do ácido fosfórico que, por um lado, ao desmineralizar previamente a dentina, irá melhorar a capacidade de infiltração da resina (Margvelashvili *et al.*, 2010, Muñoz *et al.*, 2014) e que por outro lado a desmineralização da dentina peritubular leva à forma afunilada dos prolongamentos de resina e à formação dos prolongamentos acessórios (Osorio *et al.*, 2003).

Quando se observaram os espécimes cujo sistema adesivo foi aplicado segundo a estratégia SE (Grupo B), tal como em outros estudos, não foi possível identificar a camada híbrida devido à sua espessura muito reduzida (Osorio *et al.*, 2003). Tal pode ser justificado por o pH do All-Bond Universal[®] se encontrar entre os 2,5 e os 3,5, sendo-lhe atribuída a classificação de adesivo ultra-suave e, por essa razão, apenas promove uma desmineralização de alguns nanómetros. (Sezinando, 2014; Van Meerbeek *et al.*, 2011; Tay & Pashley, 2001)

Deste modo é rejeitada a primeira hipótese nula uma vez que se verificaram diferenças na morfologia da interface adesiva promovida pelas duas estratégias de adesão em estudo.

Quando os espécimes foram sujeitos à pressão pulpar, tanto no modo de aplicação ER (Grupo C) como no SE (Grupo D), foram verificados defeitos na interface adesiva como a presença de poros e irregularidades. Para o grupo cujo adesivo foi aplicado através da técnica ER, foi ainda observado que a camada híbrida apresenta tendencialmente uma menor espessura e os prolongamentos de resina são menores e em menor quantidade do que quando este grupo não foi sujeito a pressão pulpar. Tal pode dever-se à pressão da água através dos túbulos dentinários que leva à diluição do monómero. Esta situação poderá ter consequências como a infiltração e polimerização incompleta do adesivo, que origina defeitos na interface adesiva. (Hosaka *et al.*, 2007; Sauro *et al.*, 2007)

Assim, as segunda e terceira hipóteses nulas são rejeitadas uma vez que se verificam diferenças na morfologia da interface adesiva promovida pela aplicação do adesivo em modo ER e SE, respetivamente, com e sem a presença de pressão pulpar.

Estas diferenças relativas à morfologia da camada híbrida referentes ao modo de aplicação do adesivo, bem com à presença ou ausência de pressão pulpar, são em tudo semelhantes aos resultados obtidos nos estudos que seguiram esta mesma linha de investigação para outros sistemas adesivos universais (Ramos, 2016; Rodrigues, 2016).

Não foram detetadas diferenças estatisticamente significativas quando o adesivo foi aplicado segundo a estratégia ER e SE, sem a presença de pressão pulpar (Grupos A e B) ($p > 0,05$), sendo estes resultados semelhantes a outros estudos efetuados com adesivos universais (Ramos, 2016; Rodrigues, 2016; Wagner *et al.*, 2014). Assim falhamos em rejeitar a quarta hipótese nula. Da mesma forma, a presença ou ausência de pressão pulpar não levou a diferenças de resistência adesiva quer quando o sistema foi utilizado no modo ER ou no modo SE, ($p > 0,05$), pelo que também se admitiu não rejeitar as quinta e sexta hipóteses nulas, respetivamente.

Estes resultados poderão justificar-se pelo facto do 10-MDP ser um dos constituintes do All-Bond Universal®, sendo este um monómero funcional fosfatado que permite a formação de ligações químicas com o cálcio da hidroxiapatite da dentina, formando-se uma nanocamada que favorece uma maior resistência mecânica da interface adesiva (Peumans *et al.*, 2010; Yoshida *et al.*, 2012).

Esta molécula, ao contrário de outros monómeros ácidos como o 4- Meta e o P-Phenyl, consegue estabelecer ligações mais fortes com a hidroxiapatite presente nos tecidos dentinários, pelo que levará a uma maior estabilidade da interface adesiva, na presença de humidade, graças à baixa dissolução dos sais de 10-MDP-cálcio formados,

por serem hidroliticamente estáveis. (Yoshida *et al.*, 2004; Van Landuyt *et al.*, 2007; Van Meerbeek *et al.*, 2011; Marchesi *et al.*, 2014).

Os resultados obtidos podem também dever-se às instruções do fabricante, uma vez que preconizam a aplicação ativa do adesivo em duas camadas, durante 15 segundos cada. Sabe-se que a aplicação dinâmica do produto, durante pelo menos 15 segundos pode levar a uma melhoria das forças adesivas (Perdigão & Loguercio, 2014 2015; Muñoz *et al.*, 2014). Com a aplicação ativa do adesivo é conseguida uma maior penetração dos monómeros na dentina, bem como uma maior evaporação do solvente. Por outro lado, a agitação também melhora a interação química com o substrato dentinário, para além de que a aplicação de camadas múltiplas de adesivo, permite uma maior concentração do monómero ácido funcional, principalmente para adesivos SE, uma vez que permite alterar e penetrar a *smear-layer* até à superfície de dentina, mesmo em condições de pressão pulpar (Zhang *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2003; Ito *et al.*, 2005; Belli *et al.*, 2011). Tal pode justificar a diferença dos resultados deste estudo para com o estudo de Ramos (2016), em que se verificou uma diminuição dos valores de resistência adesiva à microtração para o grupo SE sujeito a pressão pulpar (Ramos, 2016). Outro fator positivo quanto à forma de aplicação do sistema adesivo testado neste estudo é a realização da secagem do solvente durante 10 segundos até ser obtida uma superfície brilhante e sem movimento, pois um tempo prolongado de evaporação do solvente pode melhorar a eficiência da polimerização (Luque-Martinez *et al.*, 2014).

Pode considerar-se que os valores médios de resistência adesiva à microtração obtidos para cada um dos quatro grupos em estudo foram adequados, uma vez são superiores a 20 MPa, valor este considerado razoável para serem obtidas restaurações de sucesso (Burrow *et al.*, 1994).

Desta forma, correlacionando os valores de resistência adesiva com as observações dos espécimes em SEM, verifica-se também com este estudo, que a profundidade da infiltração da dentina e a espessura da camada híbrida não são um preditor da força de ligação. (Perdigão *et al.*, 2008)

Apesar das alterações morfológicas encontradas na interface adesiva dos espécimes submetidos a pressão pulpar, estas alterações não se refletiram nos valores de resistência adesiva dos quatro grupos experimentais. Contrariamente, estas mesmas características morfológicas tiveram influência nos valores de resistência adesiva em outros estudos que seguiram a mesma metodologia (Ramos, 2016; Rodrigues, 2016).

Seria espectável que, para esta investigação, a presença de poros e irregularidades nos grupos sujeitos a pressão pulpar, levassem a valores de resistência adesiva menores, uma vez que é criado um maior stress entre a camada de adesivo e a resina composta (Sauro *et al.*, 2007).

É importante ter em conta que este estudo testou a resistência adesiva às 24 horas, o que remete para a necessidade de serem realizados outros ensaios após envelhecimento para averiguar se estas alterações morfológicas terão influência na resistência adesiva do sistema adesivo testado, a longo prazo.

Uma outra questão importante, que poderá ser respondida após o envelhecimento dos espécimes, é se os dois modos de aplicação do adesivo continuarão a ser semelhantes quanto aos seus valores de resistência à microtração, ou se algum apresentará melhores resultados a longo prazo.

É fundamental também ter em conta que o comportamento dos adesivos universais pode ser semelhante ao dos adesivos simplificados, prevendo-se um padrão de degradação hidrolítica, a longo prazo, semelhante (Perdigão & Loguercio, 2014; Tay & Pashley, 2003), uma vez que os monómeros hidrofílicos e hidrofóbicos são aplicados em simultâneo, pelo que é esperado um comportamento semipermeável da camada híbrida (Sezinado, 2014) que, como tal, permitirá a infiltração pelo fluido dentinário (Tay *et al.*, 2004). Tal poderá promover desadaptações do material restaurador à estrutura dentária, pelo que a qualidade e durabilidade da adesão, considerada importante para a longevidade das restaurações, poderá estar comprometida, podendo promover o aparecimento de cárie secundária e até mesmo de pulpopatias (Li *et al.*, 2000).

Efetivamente, estudos têm indicado que os adesivos universais demonstram sinais de deterioração após 12 meses de armazenamento em água quando aplicado como adesivo ER ou SE (Marchesi *et al.*, 2014; Perdigão & Loguercio, 2014) demonstrando a ocorrência de degradação da interface adesiva ao longo do tempo (Luque-martinez *et al.*, 2014).

Futuramente, para além dos ensaios de envelhecimento dos espécimes, poderá ser também importante estudar alterações do protocolo de aplicação do All-Bond Universal®, como a introdução de uma camada hidrófoba posteriormente à aplicação do adesivo, uma vez que foi demonstrado que a utilização de uma camada adicional de resina hidrófoba sobre o adesivo diminui a permeabilidade da camada híbrida, a nanoinfiltração e aumenta

Estudo *in vitro* da adesão à dentina promovida por um sistema universal – *All-Bond*
Universal – com e sem pressão pulpar

a resistência adesiva (Muñoz et al.,2014), podendo ser benéfico no comportamento a longo prazo do adesivo, promovendo a longevidade das restaurações.

6. Conclusão

Apesar das limitações deste estudo *in vitro* pode concluir-se que:

A aplicação do adesivo All-Bond Universal® segundo o modo ER e SE levou a diferenças na morfologia da interface adesiva, apresentando esta defeitos quando sujeita a pressão pulpar.

Os valores de resistência adesiva à microtração foram semelhantes para ambas os modos de aplicação, não sendo influenciados pela presença de pressão pulpar.

Não foi possível correlacionar as alterações morfológicas detetadas na interface adesiva dos grupos sujeitos a pressão pulpar, com os resultados de resistência adesiva à microtração após 24 horas.

É fundamental a realização de outros estudos com o intuito de averiguar a *performance* do adesivo após envelhecimento, de forma a perceber se estes defeitos na interface adesiva terão influência nos valores de resistência adesiva a longo prazo.

7. Referências bibliográficas

1. Alex G. Universal Adhesives: The Next Evolution in Adhesive Dentistry? *Compend Contin Educ Dent*. 2015;36:15-26;quiz 28, 40.
2. Anchieta RB, Machado LS, Martini AP, Santos PH, Giannini M, Janal M, *et al*. Effect of long-term storage on nanomechanical and morphological properties of dentin – adhesive interfaces. *Dent Mater*. 2015;31(2):141-53.
3. Asmussen E, Uno S. Adhesion of restorative resin to dentin: chemical and physicochemical aspects. 1992;(5):68–74.
4. Baier RE. Principles of adhesion. *Oper Dent*. 1992;(5):1-9.
5. Belli R, Sartori N, Peruchi LD, Guimarães JC, Veira LC, Baratieri LN, *et al*. Effect of multiple coats of ultra-mild All-in- One adhesives on bond strength to dentin covered with two different smear layer. *J Adhes Dent*. 2011;13:507–16.
6. Berggren G, Braennstrom M. The rate of flow in dentinal tubules due to capillary attraction. *J. Dent. Res*. 1965;44:408-15.
7. Beveridge EE, Brown AC. The measurement of human dental intrapulpal pressure and its response to clinical variables. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol*. 1965;19:655–68.
8. Bowen RL, Eick JD, Henderson DA, Anderson DW. Smear layer: removal and bonding considerations. *Oper Dent Suppl*. 1984;3:30–4.
9. Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: Aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater*. 2008;24(1):90–101.
10. Brown AC, Yankowitz D. Tooth Pulp Tissue Pressure and Hydraulic Permeability. *Circ Res*. 1964;15(1):42–50.
11. Buonocore MG, Matsui A, Gwinnett AJ. Penetration of resin dental materials into enamel surfaces with reference to bonding. *Arch Oral Biol*. 1968;13(1):61–70.
12. Buonocore MG. A Simple Method of Increasing the Adhesion of Acrylic Filling Materials to Enamel Surfaces. *J Dent Res*. 1955;34(6):849–53.
13. Burrow MF, Tagami J, Negishi T, Nikaido T, Hosoda H. Early tensile bond strengths of several enamel and dentin bonding systems. *J Dent Res*. 1994;73:522–8.
14. Cadenaro M, Antonioli F, Sauro S, Tay FR, Di Lenarda R, Prati C, *et al*. Degree of conversion and permeability of dental adhesives. *Eur J Oral Sci*. 2005;113(6):525–30.
15. Chen C, Niu LN, Xie H, Zhang ZY, Zhou LQ, Jiao K, *et al*. Bonding of universal adhesives to dentine-Old wine in new bottles? *J Dent*. 2015;43(5):525–36.
16. Chersoni S, Suppa P, Grandini S, Goracci C, Monticelli F, Yiu C, *et al*. In vivo and in vitro permeability of one-step self-etch adhesives. *J Dent Res*. 2004;83(6):459–64.
17. Chng HS, Pitt Ford TR, McDonald F. Effects of prilocaine local anaesthetic solutions on pulpal blood flow in maxillary canines. *Endod Dent Traumatol*. 1996;12(2):89–95.
18. Cho BH, Dickens SH. Effects of the acetone content of single solution dentin bonding agents on the adhesive layer thickness and the microtensile bond strength. *Dent Mater*. 2004;20(2):107–15.
19. Ciucchi B, Bouillaguet S, Holz J, Pashley D. Dentinal fluid dynamics in human teeth, in vivo. *J Endod*. 1995;21(4):191–4.
20. Clark V. Sample size determination. *Plast Reconstructive Surg*. 1991;87(3):569–73.
21. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, *et al*. A Critical Review of the Durability of Adhesion to Tooth Tissue: Methods and Results. *J Dent Res*. 2005;84(2):118–32.

- 22.De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K, *et al.* Four-year Water Degradation of Total-etch Adhesives Bonded to Dentin. *J Dent Res.* 2003;82(2):136-40.
- 23.Eick JD, Gwinnett AJ, Pashley DH, Robinson SJ. Current Concepts On Adhesion To Dentin. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1997;8(3):306–35.
- 24.Eick JD, Wilko RA, Anderson CH, Sorensen SE. Scanning electron microscopy of cut tooth surfaces and identification of debris by use of the electron microprobe. 1970;49(6); Suppl:1359-68.
- 25.Fusayama T, Okuse K, Hosoda H. Relationship between Hardness, Discoloration, and Microbial Invasion in Carious Dentin. *J Dent Res.* 1966; 45(4):1033-46.
- 26.Ghazali FB. Permeability of Dentine. *Malays J Medical Sci.* 2003; 10(1):27-36.
- 27.Grégoire G, Joniot S, Guignes P, Millas A. Dentin permeability: Self-etching and one-bottle dentin bonding systems. *J Prosthet Dent.* 2003;90(1):42–9.
- 28.Hanabusa M, Mine A, Kuboki T, Momoi Y, Van Ende A, Van Meerbeek B, *et al.* Bonding effectiveness of a new “multi-mode” adhesive to enamel and dentine. *J Dent.* 2012;40(6):475–84.
- 29.Hashimoto M, Whitesides GM. Flowing lattices of bubbles as tunable, self-assembled diffraction gratings. *Small* 2006 Nov;2(11):1292-8.
- 30.Hegde MN, Hegde P, Chandra CR. Morphological evaluation of new total etching and self etching adhesive system interfaces with dentin. *J Conserv Dent.* 2012; 15(2):151-5.
- 31.Hosaka K, Nakajima M, Yamauti M, Aksornmuang J, Ikeda M, Foxton RM, *et al.* Effect of simulated pulpal pressure on all-in-one adhesive bond strengths to dentine. *J Dent.* 2007;35(3):207–13.
- 32.Ito S, Tay FR, Hashimoto M, Yoshiyama M, Saito T, Brackett WW, *et al.* Effects of multiple coatings of two all-in-one adhesives on dentin bonding. *J Adhes Dent.* 2005;7(2):133–41.
- 33.Kanca J. Effect of resin primer solvents and surface wetness on resin composite bond strength to dentin. *Am J Dent.* 1992; 5(4):213-215.
- 34.Li H, Burrow MF, Tyas MJ. Nanoleakage patterns of four dentin bonding systems. *Dent Mater.* 2000;16(1):48–56.
- 35.Luque-Martinez I V., Perdigão J, Muñoz MA, Sezinando A, Reis A, Loguercio AD. Effects of solvent evaporation time on immediate adhesive properties of universal adhesives to dentin. *Dent Mater.* 2014;30(10):1126–35.
- 36.Mahdan M, Nakajima Ma, Foxton RM, Tagami J. Combined effect of smear layer characteristics and hydrostatic pulpal pressure on dentine bond strength of HEMA-free and HEMA-containing adhesives. *J Dent.* 2013;41(10):861–71.
- 37.Marchesi G, Frassetto A, Mazzoni A, Apolonio F, Diolosà M, Cadenaro M, *et al.* Adhesive performance of a multi-mode adhesive system: 1-Year in vitro study. *J Dent.* 2014;42(5):603–12.
- 38.Margvelashvili M, Goracci C, Beloica M, Papacchini F, Ferrari M. In vitro evaluation of bonding effectiveness to dentin of all-in-one adhesives. *J Dent.* 2010;38(2):106–12.
- 39.Miyazaki M, Sato M, Onose H, Moore BK. Influence of thermal cycling on dentin bond strength of two-step bonding systems. *Am J Dent.* 1998;11(3):118–22.
- 40.Mosznier N, Salz U, Zimmermann J. Chemical aspects of self-etching enamel-dentin adhesives: A systematic review. *Dent Mater.* 2005;21(10):895–910.
- 41.Muñoz MA, Sezinando A, Luque-Martinez I, Szesz AL, Reis A, Loguercio AD, *et al.* Influence of a hydrophobic resin coating on the bonding efficacy of three universal adhesives. *J Dent.* 2014;42(5):595–602.

- 42.Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res.* 1982;16(3):265–73.
- 43.Nakabayashi N, Takarada K. Effect of HEMA on bonding to dentin. *Dent Mater.* 1992;8(2):125–30.
- 44.Nakajima M, Okuda M, Pereira PN, Tagami J, Pashley DH. Dimensional changes and ultimate tensile strengths of wet decalcified dentin applied with one-bottle adhesives. *Dent Mater.* 2002;18(8):603–8.
- 45.Oliveira SSA, Marshall SJ, Habelitz S, Gansky SA, Wilson RS, Grayson W. The effect of a self-etching primer on the continuous demineralization of dentin. *Eu J Oral Sci.* 2004;112(1):376–83.
- 46.Oliveira SSA, Pugach MK, Hilton JF, Watanabe LG, Marshall SJ, Marshall GW. The influence of the dentin smear layer on adhesion : a self-etching primer vs . a total-etch system. *Dent Mater.* 2003;19(8):758–67.
- 47.Osorio R, Toledano M, de Leonardi G, Tay F. Microleakage and Interfacial Morphology of Self-Etching Adhesives in Class V Resin Composite Restorations. *J Biomed Mater Res Appl Biomater.* 2003;15;66(1)399–409.
- 48.Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent.* 1997;25(5):355–72.
- 49.Pashley DH, Ciucchi B, Sano H. Permeability of dentin to adhesive agents. *Quintessence Int.* 1993;24(9):618– 31.
- 50.Pashley DH. Dynamics of the pulpchdentin complex. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1996;7(2):104–33.
- 51.Pashley DH. The effects of acid etching on the pulp dentin complex. *Oper Dent.* 1992;17(6):229–42.
- 52.Pashley EL, Talman R, Horner JA, Pashley DH. Permeability of the normal versus carious dentine. *Endod Dental Traumatol.* 1991;7(5):207-11.
- 53.Perdigão J, Kose C, Mena-Serrano AP, De Paula EA, Tay LY, Reis A. *et al.* A New Universal Simplified Adhesive: 18-Month Clinical Evaluation. *Oper Dent.* 2014;39(2):113–27.
- 54.Perdigão J, Lopes MM, Gomes G. In vitro bonding performance of self-etch adhesives: II – ultramorphological evaluation. *Oper Dent.* 2008;33(5):534–49.
- 55.Perdigão J, Reis A, Loguercio AD. Dentin adhesion and MMPs: A comprehensive review. *J Esthet Restor Dent.* 2013;25(4):219–41.
- 56.Perdigão J, Swift EJ. Universal Adhesives. *J Esthet Restor Dent.* 2015;27(6):331–4.
- 57.Perdigão J. Dentin bonding as a function of dentin structure. *Dent Clin North Am.* 2002;46(2):277–301.
- 58.Perdigão J. Dentin bonding-variables related to the clinical situation and the substrate treatment. *Dent Mater.* 2010;26(2):24–37.
- 59.Perdigão J. New Developments in Dental Adhesion New Developments in Dental Adhesion. *Dent Clin North Am.* 2007;51(2):333-57.
- 60.Peumans M, De Munck J, Van Landuyt KL, Poitevin A, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Eight-year clinical evaluation of a 2-step self-etch adhesive with and without selective enamel etching. *Dent Mater.* 2010;26(12):1176–84.
- 61.Peumans M, Kanumilli P, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: A systematic review of current clinical trials. *Dent Mater.* 2005;21(9):864–81.
- 62.Ramos M. Estudo *in vitro* da adesão à dentina promovida por um sistema universal- Scotchbond universal- com e sem pressão pulpar. Universidade de Lisboa; 2016.

- 63.Reeder OW, Walton RE, Livingston MJ, Pashley DH. Dentin Permeability: Determinants of Hydraulic Conductance. *J Dent Res.* 1978;57(2):187–93.
- 64.Rodrigues F. In vitro study of the adhesion to dentin promoted by an universal adhesive – Futurabond M+ - with and without pulpal pressure. Universidade de Lisboa. 2016
- 65.Rodrigues S, Oliveira N, Chasqueira F, Portugal J, Oliveira SSA. Permeabilidade dentinária e morfologia da interface adesiva de diferentes sistemas adesivos. *Rev Port Estomatol Med Dent Cir Maxilofac.* 2015;56(1):42–50.
- 66.Rosales-Leal JI, de la Torre-Moreno FJ, Bravo M. Effect of pulp pressure on the micropermeability and sealing ability of etch & rinse and self-etching adhesives. *Oper Dent.* 2007;32(3):242–50.
- 67.Salz U, Zimmermann J, Zeuner F, Moszner N. Hydrolytic stability of self-etching adhesive systems. *J Adhes Dent* 2005;7(2):107–16.
- 68.Sauro S, Pashley DH, Montanari M, Chersoni S, Carvalho RM, Toledano M, et al. Effect of simulated pulpal pressure on dentin permeability and adhesion of self-etch adhesives. *Dent Mater.* 2007;23(6):705–13.
- 69.Schulze KA, Oliveira SA, Wilson RS, Gansky SA, Marshall GW, Marshall SJ. Effect of hydration variability on hybrid layer properties of a self-etching versus an acid-etching system. *Biomaterials.* 2005;26(9):1011–8.
- 70.Sezinando A. Looking for the ideal adhesive - A review. *Rev Port Estomatol Med Dent e Cir Maxilofac.* 2014;55(4):194–206.
- 71.Simard-Savoie S, Lemay H, Taleb L. The effect of epinephrine on pulpal microcirculation. *J Dent Res.* 1979;58(11):2074–9.
- 72.Simard-Savoie S, Perrault I, Perron MJ. Effects of articaine on intrapulpal, mandibular, and femoral pressures in dogs. *Anesth Prog.* 1990;37(1):16–9.
- 73.Taschner M, Nato F, Mazzoni A, Frankenberger R, Kramer N, Di Lenarda R, et al. Role of preliminary etching for one-step self-etch adhesives. *Eu J Oral Sci.* 2010;118(5):517–24.
- 74.Tay FR, Frankenberger R, Krejci I, Bouillaguet S, Pashley DH, Carvalho RM, et al. Single-bottle adhesives behave as permeable membranes after polymerization . I. In vivo evidence. *J Dent.* 2004;32(8):611–21.
- 75.Tay FR, Pashley DH, Yoshiyama M. Two modes of nanoleakage expression in single-step adhesives. *J Dent Res.* 2002;81(7):472–6.
- 76.Tay FR, Pashley DH. Aggressiveness of contemporary self-etching systems. I: Depth of penetration beyond dentin smear layers. *Dent Mater.* 2001;17(4):296–308.
- 77.Tay FR, Pashley DH. Water treeing--a potential mechanism for degradation of dentin adhesives. *Am J Dent.* 2003;16(1):6–12.
- 78.Van Hassel H. Physiology of the human dental pulp. *Oral Sur Oral Med Oral Pathol.* 1971;32(1):126–34.
- 79.Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin A, et al. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials.* 2007;28(26):3757–85.
- 80.Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, et al. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent* 2003;28(3):215–35.
- 81.Van Meerbeek B, Inokoshi S, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Morphological Aspects of the Resin-Dentin Interdiffusion Zone with Different Dentin Adhesive Systems. *J Dent Res.* 1992;71(8):1530–40.

82. Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL. State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater.* 2011;27(1):17–28.
83. Wagner A, Wendler M, Petschelt A, Belli R, Lohbauer U. Bonding performance of universal adhesives in different etching modes. *J Dent.* 2014;42(7):800–7.
84. Wang Y, Spemcer P. Hybridization Efficiency of the Adhesive / Dentin Interface with Wet Bonding. *J Dent Res.* 2003;82(2):141–5.
85. Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H, *et al.* Comparative study on adhesive performance of functional monomers. 2004;83(6):454–8.
86. Yoshida Y, Yoshihara K, Nagaoka N, Hayakawa S, Torii Y, Ogawa T, *et al.* Self-assembled Nano-layering at the Adhesive Interface. *J Dent Res.* 2012; 91(4):376-81.
87. Yoshihara K, Yoshida Y, Nagaoka N, Hayakawa S, Okihara T, De Munck J, *et al.* Adhesive interfacial interaction affected by different carbon-chain monomers. *Dent Mater.* 2013;29(8):888–97.
88. Zhang Y, Wang Y. Effect of application mode on interfacial morphology and chemistry between dentine and self-etch adhesives. *J Dent.* 2013;41(3):231–40

Anexo A – Tabelas

Tabela A. 1 – Testes de *Shapiro-Wilk* para avaliação da normalidade da distribuição de valores.

Tests of Normality			Shapiro-Wilk	
Técnica Adesiva		Pressão Pulpar	df	Sig.
Etch-and-Rinse	Valores de Resistência Adesiva	Com Pressão Pulpar	10	,910
		Sem Pressão Pulpar	10	,974
Self-etch	Valores de Resistência Adesiva	Com Pressão Pulpar	10	,388
		Sem Pressão Pulpar	10	,265

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Tabela A. 2 - Testes de *Levene* para avaliação de homogeneidade da variância.

Test of Homogeneity of Variance			Levene Statistic	df1
Técnica Adesiva				
Etch-and-Rinse	Valores de Resistência Adesiva	Based on Mean	3,952	1
		Based on Median	3,951	1
		Based on Median and with adjusted df	3,951	1
		Based on trimmed mean	3,942	1
Self-etch	Valores de Resistência Adesiva	Based on Mean	,463	1
		Based on Median	,230	1
		Based on Median and with adjusted df	,230	1
		Based on trimmed mean	,534	1

			df2	Sig.
Etch-and-Rinse	Valores de Resistência Adesiva	Based on Mean	18	,062
		Based on Median	18	,062
		Based on Median and with adjusted df	12,663	,069
		Based on trimmed mean	18	,063
Self-etch	Valores de Resistência Adesiva	Based on Mean	18	,505
		Based on Median	18	,637
		Based on Median and with adjusted df	16,646	,637
		Based on trimmed mean	18	,474

Estudo *in vitro* da adesão à dentina promovida por um sistema universal – *All-Bond*
Universal – com e sem pressão pulpar

Tabela A. 3 – Teste ANOVA de duas dimensões para análise dos valores de microtração entre os grupos experimentais

Between-Subjects Factors			
		Value Label	N
Pressão Pulpar	1	Com Pressão Pulpar	20
	2	Sem Pressão Pulpar	20
Técnica Adesiva	1	Etch-and-Rinse	20
	2	Self-etch	20

Tests of Between-Subjects Effects					
Dependent Variable: Valores de Resistência Adesiva					
Source	Type II Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	467,332 ^a	3	155,777	1,614	,203
Intercept	27601,582	1	27601,582	285,980	,000
Pressão_Pulpar	17,892	1	17,892	,185	,669
Técnica	378,170	1	378,170	3,918	,055
Pressão_Pulpar * Técnica	71,270	1	71,270	,738	,396
Error	3474,568	36	96,516		
Total	31543,481	40			
Corrected Total	3941,900	39			

a. R Squared = ,119 (Adjusted R Squared = ,045)